

## 5. 細菌第二部

### 部長 荒川 宜親

#### 概要

当部は、抗生物質医薬品の標準品の作製や一斉監視指導収去検査などの品質管理業務及び各種の薬剤耐性菌などに関する研究（第一室）、ヘモフィルス b 型ワクチン（Hib ワクチン）の品質管理と生物学的製剤の無菌試験及びマイコプラズマ、インフルエンザ菌などに関する研究（第二室）、破傷風、ジフテリアの予防のためのトキソイドワクチンや各種の抗血清の品質管理及び破傷風菌、ジフテリア毒素産生菌などに関する研究（第三室）、BCG 製剤と精製ツベルクリンの品質管理及び結核菌を含むヒト病原性抗酸菌（らい菌を除く）に関する研究（第四室）、百日咳ワクチンの品質管理、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、生物統計及び百日咳菌に関する研究（第五室）を担当する 5 つの室で構成されている。主として呼吸器系の感染症を引き起こす病原細菌とともに全身感染症、日和見感染症、持続性慢性感染症などの起原菌、毒素産生偏性嫌気性菌などについて、細菌学、細菌感染症学の観点から細菌の病原性（薬剤耐性を含む）、細菌感染症の病態などについて分子、遺伝子レベルで研究を進めている。同時に、薬剤耐性菌などによる医療施設関連感染症の発生要因等に関して、分子疫学的側面からの解析研究、調査等を行なった。更に、細菌ワクチンなどの生物学的製剤の品質管理に不可欠な各種の標準品等の製造と品質管理に従事するとともに部の基盤的研究として、ワクチン等の品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法の改良等種々の検討や研究が進められた。

部全体としては、現状及び将来における細菌感染症対策を見据え、ヘリコバクター・ピロリやクロストリジウム・ディフィシル、バルトネラ属菌などの病原細菌に関する研究として、病原性の解明、診断技術の向上、臨床分離菌の遺伝子型別などのレファレンス業務や研究を進めている。

外部公的機関への支援などとして、WHO（WPRO）、JICA、国立国際医療センターなどの各種海外支援（研究）プロジェクト、国際協力事業等に協力し、同時に国内外からの研修生等の受け入れや各種の技術研修などを行った。さらに WHO の “ Collaborating Center for Research and

Reference Services for Immunological and Biological Products ” としての活動を行った。

品質管理業務及び研究実績の詳細については担当室毎に後述するが、本年度の代表的な成果などを以下に示す。

1. 厚生労働省の院内感染対策サーベイランス事業の運用と改善に関する支援
2. B 群連鎖球菌におけるペニシリン低感受性機構の解明と簡易識別法の開発
3. PCR-PHFA 法によるマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* の迅速検出法の確立
4. *Clostridium difficile* 関連疾患に関する研究
5. *Corynebacterium ulcerans* の分子生物学的性状およびリボタイピング等解析
6. 糖鎖と細菌毒素の結合を活用した毒素の検出法および除去方法等に関する研究
7. 抗酸菌に特異的な細胞壁構造に関与する分子の構造と機能に関する研究
8. 百日咳流行株における遺伝子型別と病原因子に関する研究
9. *Burkholderia pseudomallei* 疑い臨床分離株の細菌学的解析
10. エンドトキシンの検査法の向上に関する研究

以上の研究は、厚生科学研究費補助金による新興・再興感染症研究事業、医薬安全総合研究事業、ヒューマンサイエンス財団国際研究 Grant 事業、文部科学研究費補助金などに様々な研究費補助金により実施された。

佐々木次雄、堀内善信の両室長が平成 20 年 3 月末を以って定年退官された。客員研究員として石田説而、協力研究員として黒川博史、八木哲也、土井洋平、長沢光章、長野則之、川村久美子、小島 禎、瀬戸幸路、坂本 崇、玉井清子、吹貝姿子、林 淑朗、岩島康仁、村端真由美、鈴木弘倫、三浦英靖、山田耕二、本間 操、流動研究員として木村幸司、和知野純一、朴 貞玉、韓 賢子、上野山敦子、研究生として山田友紀、畑中公基、長野由起子、吉田理紗、井田明里が在籍し病原細菌に関する様々な研究を行った。臨時職員（事務補助、研究補助）として、瀬川晶子、甲斐久美子、瀧 世志江、宮永由弥子、南條友

子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田（松岡）眞由美、長岡芳昭、岡宮洋子、本郷有美子、鯨坂裕美、藤田美智子、片岡紀代（村山庁舎業務管理課所属）が在籍し、事務補助、研究補助等に従事した。

## 業績

### 調査・研究

#### 1. 薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌及び抗菌薬関連下痢症等に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

国内 67 施設の医療機関等から依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性遺伝子検査（1578 件）、毒素遺伝子検査（83 件）、菌株タイピング解析（507 件）、菌種同定（1 件）、*Clostridium difficile* 分離同定（42 件）、*C. difficile* 毒素検出（42 件）、その他（30 件）の解析を実施し、それらの結果を依頼施設に報告した。依頼菌株の菌種については、*Enterococcus* spp.（54 株）、*Staphylococcus* spp.（308 株）、*Streptococcus* spp.（392 株）、*Clostridium* spp.（93 株）、*Propionibacterium acnes*（1 株）、*Pseudomonas* spp.（161 株）、*Escherichia coli*（179 株）、*Enterobacter* spp.（10 株）、*Shigella sonnei*（1 株）、*Salmonella* sp.（1 件）、*Serratia marcescens*（12 株）、*Citrobacter* spp.（6 株）、*Proteus mirabilis*（18 株）、*Providencia* spp.（4 株）、*Klebsiella* spp.（21 株）、*Acinetobacter* spp.（35 株）、*Achromobacter xylosoxidans*（9 株）、*Bacteroides* spp.（5 株）、グラム陰性桿菌（1 株）、その他（44 株）であった。なお、菌株等は感染研細菌第二部の管理番号（MRY 番号）を付与して保存した。[鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、木村幸司、和知野純一、近田俊文、荒川宜親]

2. 新型 CTX-M-35 型  $\beta$ -ラクタマーゼと IMP-1 型メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼの同時産生菌の遺伝子解析

臨床分離株より、メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼと ESBL を同時に産生する肺炎桿菌を分離し、その  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子と周辺構造の解析を試みた。この株は第三世代セファロスポリンに高度耐性を示した。 $\beta$ -ラクタマーゼのシーケンス解析では、新型の CTX-M-35 型  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子と IMP-1 型メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子を同時に保有していることが明らかとなった。IMP-1 型メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子は、クラス 1 型インテグロン構造に遺伝子カセットとして担われ、アミノグリコシドに耐性を付与する *aac(6)-Ib* 遺伝子も同時に保有していた。更に、CTX-M-35 型  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子は、ISE<sub>cpI</sub> 構造に担われていることが明らかとなった。今回

の解析結果は、メタロ- $\beta$ -ラクタマーゼと CTX-M-35 型  $\beta$ -ラクタマーゼを同時に産生する菌の初めての報告であり、こうした多剤耐性菌の動向の監視に寄与するものと考えられた。[柴田尚宏、荒川宜親]

3. CTX-M-14 型  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子と SHV-12 型  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子同時保有 *Enterobacter cloacae* の  $\beta$ -ラクタマーゼ解析とプラスミド解析

急性骨髄性白血病で、骨髄移植後の加療中に敗血症をきたした症例の血液培養から、第 3 世代セファロスポリン耐性 *E. cloacae* を検出した。分離された *E. cloacae* は、extended-spectrum  $\beta$ -lactamases（ESBLs）産生が疑われた。遺伝子解析により SHV-12 型と CTX-M-14 型の 2 つの ESBL 産生遺伝子を保有していることが確定した。本報告は国内における SHV-12 型 / CTX-M-14 型 ESBL 産生 *E. cloacae* による敗血症例の最初の報告である。アジア地域でも同様の ESBL 産生菌が報告されており、今後、国内でもこの種の耐性菌の増加が懸念される。染色体性 AmpC 過剰産生 *E. cloacae* が複数の  $\beta$ -ラクタマーゼを産生すると、抗菌薬の選択が困難になるため、注意が必要である。[柴田尚宏、本間操、荒川宜親]

4. アミノグリコシド高度耐性を示す *Klebsiella pneumoniae* の耐性機序の解析

ブラジルの医療機関から分離された多剤耐性 *K. pneumoniae* のアミノグリコシド耐性機序を調べ、16S rRNA メチラーゼの一種である *rmtD* を保有していることを明らかにした。[山根一和、土井洋平、David L. Paterson（Pittsburgh 大学感染症科）]

5. 血液培養から分離されたフルオロキノロン耐性大腸菌の臨床

フルオロキノロン耐性大腸菌による血流感染を発症した患者について、フルオロキノロン感性大腸菌による血流感染を発症した患者と比較したところ、発症前 1 か月以内のフルオロキノロンの使用、ナーシングホームへの入院歴、肝疾患が独立した危険因子であることが明らかになった。[山根一和、土井洋平、David L. Paterson（Pittsburgh 大学感染症科）]

6. 薬剤耐性菌による院内感染事例の疫学的・分子疫学的解析

医療機関において発生した薬剤耐性菌（バンコマイシン耐性腸球菌、多剤耐性緑膿菌、ESBL 産生大腸菌）による院内感染事例について、耐性遺伝子の解析、および

PFGE 解析による遺伝子型別などを実施、疫学情報とあわせて感染源感染経路についての検討を行った。[ 鈴木里和、山根一和、柴田尚宏 ]

#### 7 . ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の解析

1995 年から 2005 年に国内で分離された 14 株のペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌がペニシリンのみならず、オキサリリン、セフトゾキシムにも低感受性である事を見出した。PFGE 解析により 2 株を除いて遺伝的に関連性の少ないことを見いだした。更に、共通して PBP2X に V405A 及び / または Q557E の変異を持つ事を明らかにし、これらの変異がペニシリン低感受性に寄与することを証明した。[ 木村幸司、鈴木里和、荒川宜親 ]

#### 8 . ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の検出法の開発

ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌を 3 種の Kirby-Dauer disk で検出する方法を開発した。本方法は、高価な機器を必要とせず、汎用性が高いと考えられる。また、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の PBP2X の変異を検出する PCR 法を開発した。[ 木村幸司、荒川宜親 ]

#### 9 . 16S rRNA methyltransferase, NpmA の結晶構造解析

高度アミノグリコシド耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase, NpmA の結晶構造解析を行った。C 末にヒスチジンタグを付加したりコンビナントタンパクを大腸菌で発現させ、ニッケルカラム及びゲルろ過カラムにて精製を行った。精製したコンビナントタンパクを用いて結晶化を行い、1 週間のインキュベーションで 0.2 × 0.2 × 0.1 mm の結晶を得た。PX にて測定を行った結果、2.0 分解能の X 線回折像が得られた。[ 和知野純一、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親 ]

#### 10 . 汎アミノ配糖体高度耐性菌の迅速検出系の開発

汎アミノ配糖体耐性遺伝子である 16S rRNA メチレーズ遺伝子 (*rmtA*, *rmtB*, *armA*) を検出するための LAMP プライマーを設計し、その感度と特異性を評価した。構築した LAMP 検出系はいずれも 1 時間以内に 100 コピーの遺伝子を検出し、さらに菌種に関わらず標的遺伝子を検出できることが判明した。本法により、簡便かつ迅速な汎アミノ配糖体高度耐性菌の検出が可能となり、臨床現場への応用が期待される。[ 長沢光章(東北大学病院)、蒲地一成、和知野純一、荒川宜親 ]

#### . *Clostridium difficile* 関連疾患等に関する研究

##### 1 . *Clostridium difficile* における *slpA* 遺伝子のシーケ

ンスによるタイピング法の確立とダイレクト・タイピングへの応用

*C. difficile* の *slpA* 遺伝子のシーケンスによるタイピング法を確立し、複数の医療施設において採取された臨床検体を用いて、糞便検体から直接抽出した DNA におけるタイピング (ダイレクト・タイピング) への応用を行った。[ 加藤はる、横山敏之(久美愛病院)、加藤秀章・泉田さゆり(豊川市民病院)、赤羽貴行(安曇野赤十字病院)、伊藤陽一郎(岐阜赤十字病院) ]

##### 2 . *Clostridium difficile* の院内伝播に関する検討

日本の医療施設において、*C. difficile* 感染症の発症率を求め、どのような菌株が流行しているのかを調べる目的で、3 施設において共同研究の準備を進め、一部解析を開始した。[ 加藤はる・吉村由美子・甲斐久美子・瀧世志江、中村敦・加藤秀章・岩島康仁・脇本幸夫・柴山順子・矢野久子・近藤優子(名古屋市立大学)、赤羽貴行・床尾万寿雄・高橋一豊・小林厚幸・山田揚子・高橋郁美(安曇野赤十字病院)、酒井 力・辻村秀樹・里村秀行・前田佐知子(千葉県がんセンター) ]

##### 3 . 解析を依頼された検体あるいは *Clostridium difficile* 菌株の検討

重症例からの検体や菌株、施設内感染が疑われた事例、binary toxin 遺伝子陽性菌株の検討を行った。[ 加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江 ]

##### 4 . *Clostridium perfringens* 臨床分離株の解析

敗血症症例の血液から分離された *C. perfringens* の解析を依頼され、major toxin および enterotoxin 遺伝子の検出解析を行った。[ 加藤はる、吉村由美子 ]

#### . マイコプラズマに関する研究

##### 1 . PCR-PHFA 法によるマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* の迅速検出法の確立

マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の迅速検出法として、PCR-PHFA 法による迅速検出法を確立した。日本で分離された 87 株の変異は 23SrRNA 遺伝子の A2063Q (76 株)、A2063C (1 株)、A2064G (10 株) と報告されていることから A2063G 及び A2064G 変異の迅速検出系を検討した。変異領域の nested-PCR 陽性検体について、ビオチン標識と DNP (dinitrophenyl) 標識プライマーを用いて PCR を行い、予め非標識プライマーで増幅した同領域の PCR 産物で 1/50 に希釈し、熱変性後、アニーリングさせる。これをストレプトアビジン固定ウエルに吸着させ、酵素

標識抗 DNP 抗体を用いて発色反応を行ったところ、再現性良く、また高感度に A2063G 及び A2064G 変異を検出できた。本法は、簡便法として臨床現場でも適用可能であることが示唆された。[佐々木次雄、久保田(松岡)眞由美、鈴木里和、佐々木裕子、荒川宜親]

## 2. マイコプラズマ感染における肺外病変の病態ならびに特定疾患との関連性についての解析

マイコプラズマ感染における肺外病変の病態ならびに特定疾患(抗リン脂質抗体症候群等)との関連性を調べる目的で、1)マイコプラズマ感染者における抗リン脂質抗体の解析、ならびに、2)マイコプラズマ感染関節炎モデルの作成を行なった。1については、昨年度に加え、新たな1種類を含む2種類の抗リン脂質抗体価の上昇が示唆された。2については、個体差はあるものの、複数回投与群において滑膜上皮細胞の多層化や、リンパ球集ぞくなどの関節リウマチで見られる所見が得られ、ヒトのリウマチ疾患の早期診断に有用とされる抗ガラクトース欠損 IgG 抗体価の一過性上昇が認められた。[佐々木裕子、山田耕二・三浦英靖・松田和洋(エムバイオテック) 網 康至・須崎百合子(動物管理室)、永田典代・原嶋綾子(感染病理部) 荒川宜親、佐々木次雄]

## 3. *Mycoplasma pneumoniae* の細胞構造に関する研究

*M. pneumoniae* の細胞微細構造を新しい技法で解析し、病原性の解明や治療診断に役立つ情報を得ることを目標としている。これまでの作業に引き続き蛍光タンパク質タグによる細胞内タンパク質の局在観察を進めると共に電顕による局在観察の検討も行った。細胞処理法、電顕画像平均化などの検討により高解像度の像が取得できた。また、ORF産物の局在観察を免疫電顕法によって行った結果、Rod 構造の先端から P65、HMW3、HMW1、P24の順でタンパク質が存在しているのを確認した。[見理剛、佐々木裕子、堀野敦子、宮田真人、中根大介(大阪市大院) 文部科学研究費補助金:特定領域・応用ゲノム]

## 4. *Mycoplasma pneumoniae* の変異株ライブラリーの作製

*M. pneumoniae* の病原性を理解する上で役立つ変異株を取得するため、我々が考案した *M. pneumoniae* のトランスポゾン Tn4001 挿入変異位置を簡便に決定する方法を用いて *M. pneumoniae* の変異株ライブラリーの構築を行っている。今年度も引き続き変異株コレクションの作製を継続した。今後は、効率的に目的の遺伝子の破壊株を取得する方法を併用し、さらに有用なライブラリーと

することを旨とする。[堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄]

## 5. 臨床検体からの *Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子学的検出法・分離法の検討

患者からの *M. pneumoniae* の菌体分離・遺伝子検査を適切かつ簡便に行うため、問題点の解決にむけて検討を行っている。次年度以降は実際の臨床検体を用いて検討を行っていく。[堀野敦子、見理 剛、佐々木次雄、吉野 学(栄研化学) 厚生労働科学研究費補助金:新興・再興感染症事業費]

## . インフルエンザ菌/細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

### 1. 小児侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* の疫学的解析

小児 *H. influenzae* 侵襲性感染症からの分離菌について解析した。2007年6月~2008年2月に6県で分離された34株の生物型別、血清型別、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析を行った。血清型は1株(型別不能型)を除いてすべてb型であり、生物型は1型が優勢であった。4株(12%)が-lラクタマーゼを産生し、その遺伝子型はすべてTEM-1型であった。現在標準的に使用されているセフトキシムとメロペネムに対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MICが高い菌株が少なくなかった。[新谷三春、加藤はる、佐々木裕子、久保田(松岡)眞由美、佐々木次雄、荒川宜親、宮村達男]

### 2. 細菌性髄膜炎起因菌推定のための PCR primer の検出感度及び特異性の検討

細菌性髄膜炎を引き起こした患者由来髄液(CSF)、約60サンプルについて起因菌を推定するためにこれまでに報告されている PCR primer (*H. influenzae*、*S. pneumoniae*、*N. meningitidis*)を単独又はこれら3種類を混合したものについて検出感度及び特異性を検討した。更にこれら3種以外の起因菌についても感度良く検出できる系として、16S rRNAの800F/1500R primerについて検討したところ、これまでに報告されている *H. influenzae*、*S. pneumoniae*、*N. meningitidis* 検出用 primer とは同等以上の検出感度を示し、更に *Klebsiella* sp.等の検出も可能であった。現在、これらの結果と培養法成績及び臨床成績との比較検討中である。[久保田(松岡)眞由美、佐々木次雄]

## . ジフテリア菌、破傷風菌及びボツリヌス菌等に関する

## る研究

### 1. ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) C7(-)株に関する研究

ジフテリア菌 (*C. diphtheriae*) C7(-)株が PAI (pathogenicity islands) のほとんどを欠失していることを前年度報告したが、本年度は、本菌株がヒト咽頭細胞 Detroit 562 に対する接着性やヒト赤血球に対する溶血性を示すことを見いだした。これらの性質は病原性と密接に関連すると考えられ、ジフテリア菌には PAI に支配されない病原因子が存在することが示唆された。[ 岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀 ]

### 2. カンボジアにおけるジフテリア疑患者の解析

ジフテリア疑患者の咽頭スワブ 30 検体を検査した結果、菌は分離されなかったが、PCR によりジフテリア毒素遺伝子は 1 検体陽性であった。今後、カンボジア国内の適当な実験室内診断実施機関に当該研究で実施している診断技術の移転を検討する。[ 小宮貴子、蒲地一成、岩城正昭、豊泉裕美、韓 賢子、高橋元秀、遠田耕平 (EPI/WHO)、Nareth Y (カンボジア NIP)、厚生労働省国際医療協力研究委託費事業 ]

### 3. *Corynebacterium ulcerans* の細菌学および分子生物学的性状解析

ヒトおよび動物から分離された *C. ulcerans* は、*C. diphtheriae* が産生する毒素とは異なるが、本菌に感染した動物由来菌とヒト患者由来菌は遺伝学的に類似していることを確認した。また、犬の調査結果、大阪府犬管理指導所の 1 匹の犬から毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。この地区獣医師会の協力で 218 頭の咽頭スワブ等を検査したが、菌の分離、PCR 試験は陰性であった。[ 小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀、勝川千尋・河原隆二・井上 清 (大阪府公衛研)、瀬戸幸路・幸田知子・向本雅郁・小崎俊司 (大阪府立大学)、厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業 ]

### 4. *Corynebacterium ulcerans* のリポタイピングによる解析

本邦においてヒトから初めて分離された *C. ulcerans* の 2 菌株についてリポタイピングによる解析を行なった。これら 2 菌株は同一のパターンを示したが、これは現在世界で *C. ulcerans* について報告されている 9 種類のパターンのいずれとも異なる可能性が示された。[ 岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀 ]

### 5. 日本国内の土壌での破傷風菌 (*Clostridium tetani*) 分離

破傷風は *C. tetani* が産生する神経毒素により、強直性痙攣をひき起こす疾患である。その芽胞が土壌中に広く常在し、創傷部から体内に侵入・感染が起こる。破傷風菌の土壌中の国内分布については、最近の全国的な調査は無い。そこで、今回 21 都道府県から土壌を採取し、その約半数について菌の分布状況を調べた中間報告を行った。土壌 100 検体について、11 カ所から破傷風菌が分離された。[ 山本明彦、岩城正昭、見理 剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀 ]

### 6. 糖鎖を用いた破傷風毒素除去法および検出法の開発研究

糖鎖を用いた破傷風毒素除去法および検出法を開発するための基礎研究として、破傷風毒素と糖鎖との相互作用を解析している。タカラバイオ社製の糖鎖アレイを用いたスクリーニングで、破傷風毒素と相互作用することが知られている GT1b に加えて GM1, GD1a への結合が認められた。これらの結合はピアコアを用いた表面プラズモン共鳴による解析でも確認された。しかし後二者は極めて弱い結合であった。[ 上野山敦子 (化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親 ]

### 7. ボツリヌス A 型 M (12S) 毒素と糖鎖との結合に関する研究

前年度に精製したボツリヌス A 型 M (12S) 毒素 (神経毒素とアクセサリー蛋白 NTNH との会合体) と糖鎖との結合について検討した。タカラ糖鎖アレイを用いたスクリーニングおよびピアコアによる解析では、糖鎖アレイに搭載される 24 種の糖鎖のいずれとの結合も認められなかった。A 型神経毒素は、糖鎖アレイの 24 種の糖鎖のいくつかと結合することが知られているが、NTNH との会合によりその結合能が失われる可能性が考えられた。[ 上野山敦子 (化学技術戦略推進機構)、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親 ]

### 8. 細菌毒素の検出系開発に関する研究

*Staphylococcus aureus* Enterotoxin B (SEB) と *C. septicum* 毒素 (AT) の早期検出系としてイムノクロマト法を開発するための基礎データとなるサンドイッチ ELISA 検出系における試薬の条件検討で得た成績を基に試作品をキット化した。また、過去に作製したボツリヌス毒素検出用ラッセクス凝集反応キットを用いて、乳児ボツリヌス患者便および不法輸入ボツリヌス毒素医薬品の検査で

早期かつ簡易に陽性結果が得られたため、追加製造をして国内レファレンスセンターに配布した。[高橋元秀、向本雅郁（大阪府立大）、杉山純一（デンカ生研）、厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業]

### ・結核等抗酸菌に関する研究

#### 1．非結核性抗酸菌の薬剤耐性メカニズムの解析

非結核性抗酸菌は様々な薬剤に対して自然耐性である。RI 標識した Clarithromycin を用いた実験で、非結核性抗酸菌は薬剤を菌体外に排出する活性を持つ事を明らかにした。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

#### 2．非結核性抗酸菌の新規 Insertion Sequence の解析

臨床より分離された *Mycobacterium avium* において、新規の Insertion sequence (IS) を見出した。この IS の両端に存在する direct repeat は 161bp と、通常の IS のものに比べ非常に長いことが分かった。またこの IS は継代により変化が著しく、mobility が高いことが分かった。[朴 貞玉、森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

#### 3．抗酸菌の迅速な新規鑑別法の開発

2 種類のプライマーセットを用いて PCR 反応を行うことにより、既存のキットよりも多くの種類の抗酸菌を迅速かつ簡便に同定する新しい方法を開発した。臨床分離株を含めた 26 菌種 115 株の抗酸菌を用いた解析結果より、本鑑別法の感度、並びに特異度はほぼ 100% であることが明らかとなった。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

#### 4．抗酸菌に特異的な細胞壁構造に関与している新規遺伝子・タンパク質の同定

抗酸菌の細胞壁構造の合成に関与する新規遺伝子・タンパク質の同定を目的として、ゲノムの遺伝子を破壊した株を作成し、野生株と細胞壁構造等の比較を行っている。その結果、野生株と比較してコロニー形態、並びに凝集度合いが異なっている破壊株を取得し、抗酸菌の細胞壁構造に関与していると考えられる新規遺伝子を同定した。[森茂太郎、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

#### 5．結核菌由来タンパク質の高次構造解析

菌体内においてエネルギー代謝に関与している酵素である Polyphosphate kinase、並びに細胞壁構造に関与しているタンパク質である Propionyl-CoA carboxylase と Acyl-CoA synthetase について、大腸菌を宿主とした大量発現株の作成と精製を行い、結晶化条件の検討と X 線回

折データの収集を試みた。X 線回折データの収集は、物質構造科学研究所において放射光共同利用実験として行った。[森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾、朴 貞玉、荒川宜親]

#### 6．モルモット臓器由来 BCG 増殖抑制因子に関する研究

モルモット脾臓ホモジネート中に BCG の増殖を抑制する活性が存在することを明らかにした。本活性は BCG 以外の抗酸菌 (*M. phley* および *M. avium*) には無効であり、ホモジネートの不溶性画分に活性があった。[持田恵子、荒川宜親]

### ・百日咳菌に関する研究

#### 1．百日咳流行株の新規タイピング法の確立と応用

百日咳菌の新規タイピング法として臨床検体からの multilocus sequence typing (MLST) の確立を試みた。MLST は 3 種の多様性病原遺伝子 (*ptxS1*, *prn*, *fim3*) を標的とし、その allele タイプの組み合わせから MLST を決定した。LAMP 陽性の患者検体を用いた場合、小児検体の 64%、成人・青年検体の 12% で MLST が決定され、本法が臨床検体に適用可能であることが示された。また、2007 年の百日咳集団感染事例に応用したところ、事例間で流行株の MLST が異なることが判明した。[蒲地一成、岡田賢司（福岡病院）、韓 賢子、鯉坂裕美]

#### 2．自己凝集能を持つ百日咳流行株の細菌学的解析

近年、わが国の臨床現場からは自己凝集能を持つ百日咳菌が分離されているが、その病原性などは不明である。本研究では自己凝集株の細菌学的知見を得ることを目的に、遺伝子型解析と自己凝集に関連するタンパク質の検索を行った。その結果、自己凝集株 (4 株) は高い遺伝的相同性 (96 ~ 100%) を示し、特定の multilocus sequence type (MLST-4) に属することが判明した。さらに、自己凝集関連タンパク質として 2 種類のタンパク質 (170 kDa protein, 40 kDa protein) を同定した。[蒲地一成、韓 賢子、鯉坂裕美、荒川宜親]

#### 3．百日咳流行株におけるタイプ エフェクター BopC の発現解析

わが国の百日咳流行株はワクチン型と欧米型に分類され、欧米型にはタイプ III エフェクター BopC の特異的な発現が認められる。この特異発現の差異を明らかにするため、両菌株の遺伝子解析を実施した。その結果、ワクチン型の BopC 遺伝子上流域に IS481 の挿入が確認され、

その挿入位置と方向性はすべて一致していた。なお、欧米型に IS481 の挿入は認められなかった。このことから、ワクチン型と欧米型における BopC の発現差異は、BopC プロモーターへの IS481 挿入が原因と考えられた。[ 韓賢子、蒲地一成、桑江朝臣・阿部章夫(北里生命研)、荒川宜親 ]

#### 4 . カンボジアにおける百日咳流行と流行株の解析

2007 年度にカンボジアで発生した百日咳に対し、実験室診断ならびに流行株の解析を実施した。2006 年の発生状況と比較したところ、2007 年度では 3~4 歳児の患者割合が増加し、さらにワクチン未接種と既接種者(3 回接種)の LAMP 陽性率が有意に上昇していることが判明した。一方、2007 年度分離株(7 株)のエリスロマイシン感受性と遺伝子型を解析した結果、2004~2006 年分離株(11 株)と大きな差異を認めなかった。[ 蒲地一成、鯉坂裕美、韓賢子、遠田耕平(EPI/WHO)、堀内善信、荒川宜親、高橋元秀 ]

#### ・その他の病原細菌に関する研究

##### 1 . *Helicobacter pylori* の -glutamyl transpeptidase の構造解析

*H. pylori* の -glutamyl transpeptidase について大腸菌を用いて大量精製し、結晶化した。それについて X 線回折データを収集した。X 線回折データの収集は、物質構造科学研究所において放射光共同利用実験として行った。[ 柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親 ]

##### 2 . *Burkholderia pseudomallei* 疑い臨床分離株の細菌学的解析

類鼻疽が疑われた患者からの分離菌の同定を行った。この菌はグラム陰性短桿菌であり、チョコレート寒天培地上でのコロニー形成に一週間を要した。しかし、*B. pseudomallei* 選択培地には増殖しなかった。コロニーは微小で、一晩で特徴的なコロニーを形成する *B. pseudomallei* とは明らかに異なる形態を示した。16s rRNA シークエンシングによる解析を行った結果、この菌は *Burkholderia* sp. 699.68 に一致した。この菌は *Rhizopus* の共生菌として報告されており、病院に問い合わせたところ、患者からカビが分離された。シークエンシングの結果、このカビは *Burkholderia* sp. 699.68 と共生する *Rhizopus* であり、今回の菌は *Burkholderia* sp. 699.68 と同定した。[ 堀野敦子、山根一和、荒川宜親 ]

#### ・エンドトキシンに関する研究

##### 1 . 内毒素の *in vitro* 生物活性測定法の応用

昨年に引き続きペプチドグリカンや グルカンの生物活性を測定する *in vitro* 試験法の開発を目指した。本年度は、市販のペプチドグリカンや グルカンについて、ヒトモノサイト由来 28SC 細胞における IL-6 産生誘導を用いて評価した。その結果、両方とも用量依存的な IL-6 産生誘導能があることが明らかとなった。[ 山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、堀内善信 ]

##### 2 . 血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

血液製剤(21 種)に対して反応干渉因子試験を実施した結果、本研究で試験した製剤(アンチトロンビン製剤を除く)は、カイネティック比濁法で 2~32 倍以上の希釈、カイネティック比色法では 4~8 倍以上の希釈により、反応干渉作用を受けることなく製剤中に添加したエンドトキシン量の平行線定量法による算出が可能であった。一方、アンチトロンビン製剤は強い反応阻害作用を示し、希釈による反応干渉の除去にはかなりの倍数の希釈が必要であり感度の点から本試験法の適用は困難と考えられた。[ 落合雅樹、山本明彦、豊泉裕美、堀内善信、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成(血液・安全性研究部) ]

##### 3 . 血液製剤へのエンドトキシン試験適用に関する研究

昨年に引き続いて血液製剤について、エンドトキシンとの共同作用をヒトモノサイト由来 28SC 細胞における IL-6 産生誘導を用いて評価した。その結果、人ハプトグロビン製剤、乾燥濃縮人アンチトロンビン 製剤及び乾燥濃縮人プロテイン C 製剤で用量依存的なエンドトキシン活性の増強現象が見られた。この現象は、複数製造所、複数ロットで確認され、製剤特有の現象であることが示唆された。[ 山本明彦、落合雅樹、内藤誠之郎・浜口 功・山口一成(血液・安全性研究部)、堀内善信 ]

##### 4 . ファージディスプレイ法による LPS 結合ペプチド作成の試み

昨年に引き続き *E. coli* ファージライブラリーより単離した低分子 LPS 親和性ペプチドについて、その応用を検討している。このペプチドの 12 アミノ酸の構成を変化させてより強いエンドトキシン吸着活性を示す物質を検索した。その結果、アルギニンを構成アミノ酸の中に加えることによってより強い吸着活性を得ることが明らかになった。[ 山本明彦、落合雅樹、片岡紀代、鈴木政嗣・松本めぐみ(ペプタイドドア)、丹羽 允、堀内善信 ]

## 5. LPS 結合ペプチドのエンドトキシン試験法への応用に関する研究

強い抑制作用のためエンドトキシン試験法の適用が困難と考えられたアンチトロニン (AT-) に対して、ファージディスプレイ法で単離した強い LPS 親和性を示すがエンドトキシン活性を中和しない 12 アミノ酸のペプチドを固相化したビーズを用いてエンドトキシン試験への応用の可能性を検討した。その結果、LPS 結合ペプチド固相化ビーズは AT- 中のエンドトキシンをほぼ 100% 吸着し、洗浄の後直接 LAL 試薬で検出、定量出来ることがわかった。[堀内善信、山本明彦、落合雅樹、鈴木政嗣・松本めぐみ (ペプチドア)]

## 6. エンドトキシン試験における反応干渉因子に関する研究

エンドトキシン試験では、試験の成立条件として反応干渉因子試験における添加回収率が 50~200% でなければならない。特異的エンドトキシン試薬として使用されているカイネティック-QCL (第一化学薬品) を用いて、人血清アルブミンと加熱人血漿たんぱくのエンドトキシン量を予備的に測定した結果、これらの製剤では添加回収率が 50% 程度となる検体があった。これらから製剤により試験法選択の際には感度だけでなく添加回収率などに関しても十分な検討が必要である。[福田 靖、堀内善信]

### ・生物学的製剤に関する研究

#### 1. 精製百日せきワクチン力価試験用国際標準品候補品標準化の WHO 国際共同研究

精製百日せきワクチン力価試験用標準品候補品 (JN1H-3) の標準化および国際標準品としての確立を目的とした共同研究が実施された。本共同研究において、力価はマウス脳内攻撃法により評価された。その結果、精製百日せきワクチンの力価は全菌体ワクチン標準品に対する相対力価として評価するより、JN1H-3 に対して相対力価を算出することで、施設間差あるいはマウスの系統差による影響を受けにくく、JN1H-3 が精製百日せきワクチンの力価試験用標準品としてより適していることが明らかとなり、JN1H-3 を 34 IU/ampoule の国際標準品として確立することを推奨することとなった。[堀内善信、落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、豊泉裕美]

#### 2. ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) に対するラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響

ヒトにおいてヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) (以下 PRP-TT と略) と DTaP を混合して接種すると、同時に別部位に接種した場合に比較して、抗 PRP 抗体応答が低下する場合は知られており、最近ラットにおいても同様の現象が示された。そこで昨年度に引き続き PRP-TT と、国内 5 社及び国外 2 社製の DTaP を用いてラットの抗 PRP 抗体応答に及ぼす DTaP の影響について検討した。SD ラット雌 4 週齢各群 5 匹に、各ワクチンを 0.04 SHD ずつ混合接種あるいは同時別部位接種した。0, 4, 6 週に採血し、血清抗 PRP-IgG を ELISA により測定した。A 社製 DTaP において混合接種群が抗体応答低下傾向を示した他は、いずれの DTaP においても混合接種群、同時別部位接種群ともに PRP-TT 単独接種群との間で、血中抗 PRP 抗体価に顕著な差を示さなかった。さらに再現性について検討を続けている。[新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、久保田 (松岡) 眞由美、長岡芳昭、増田まり子、佐々木次雄、荒川宜親]

#### 3. ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) 中の破傷風トキソイド抗原のモルモットの免疫応答

欧州で市販されている DTaP-IPV-Hib ワクチン中の各ワクチン成分の破傷風トキソイドの力価をモルモット法で測定・比較した。その結果、キャリア蛋白として破傷風トキソイドを含む Hib は単独で国内 DTaP ワクチンと同様な力価を有すること、欧州産 DTaP-IPV に Hib を混合した場合は、混合前の DTaP-IPV の力価の 6.68 倍に上昇すること、国産 DTaP に Hib を混合した場合は、5.93 倍の力価の増強が確認された。[福田 靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

#### 4. ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) 中の破傷風トキソイド抗原によるマウスとモルモットの免疫応答の比較

国産 DTaP の破傷風トキソイド力価を 1 とし、欧州産 Hib 単独の相対力価と比較するとマウスでは 9.89 倍であり、モルモットでは 0.813 倍であった。さらに、欧州産 DTaP-IPV と Hib を混合する事により、マウスでは 57.4 倍上昇し、モルモットは 6.68 倍であった。以上の結果から、Hib による破傷風トキソイド力価の影響はマウスよりもモルモットの方が小さい事が明らかとなった。[福田 靖、岩城正昭、小宮貴子、高橋元秀]

#### 5. 不活化ポリオワクチン標準品の安定性に関する検討 不活化ポリオワクチンの開発および品質管理にとって、力価試験等のための標準品は重要である。これまでに参



照品として製造された#04C とその後継ロットの#05J の安定性をラット免疫原性試験により確認した結果、どちらも1年半以上力価の顕著な変動は認められなかった。しかし、ラット免疫原性試験の精度が安定性評価に十分でない可能性があることから、さらに D 抗原 ELISA による安定性評価を行った。その結果、ラット免疫原性試験の力価に影響が見られるほどの低下ではないにしても、D 抗原 ELISA では凍結保存した OPV に比べて多少安定性が劣る可能性が否定できなかった。[堀内善信、武田直和・白土東子(ウイルス第二部)、高橋元秀、安部忍・宮沢美和子(ポリオ研)]

#### 6. ウマ抗毒素製剤の製造効率化の検討

ウマ抗毒素製剤の製造効率化のために免疫方法を検討した結果、従来の追加免疫は毒素を用いるよりもトキシノイドを用いた方が高力価の血清が得られた。ABEF 型ボツリヌス毒素中和抗体を有するボランティアの成分血より抗体ライブラリーを作製し、パニング法でボツリヌス毒素に結合する多種類の抗体を単離し、中和活性を有する6種類の抗体を得た。これら抗体は最低4種類のエピトープを認識する抗体群に分類された。[高橋元秀、大隈邦夫(化血研)、黒澤良和(藤田保健衛生大)、向本雅郁(大阪府立大)、千葉 丈(東京理科大)、厚生労働科学研究費補助金:医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業]

#### ・抗生物質製剤に関する研究

##### 1. 抗生物質の微生物学的力価試験法の改良に関する研究

日本薬局方の一般試験法「抗生物質の微生物学的力価試験法」を実施する上での有用なデータ並びに改良点を提供することを目的に種々検討を行ってきた。その検討結果は、平成18年3月31日告示の第15改正日局において規定改正に反映することができた。今年度も「抗生物質の微生物学的力価試験法」についての種々の技術的な情報等は「微生物管理実務と最新試験法」の出版物において、本研究で得られたデータ等を含めて解説を加えた。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、加藤はる、山根一和、柴田尚宏、粕谷裕子]

##### 2. 抗生物質の微生物学的力価試験法の比濁法に関する検討

日本薬局方の医薬品各条のグラミシジンにおける定量法(力価試験法)の比濁法について、利便性を考えて試験管に代えてマイクロプレートが使用できるかを検討し

た。その結果、マイクロプレートを使用した場合には菌液及び試料溶液等が極微量になるために、測定データのバラツキが非常に大きく正確に測定できないことが判明し、マイクロプレートに代替することは不可能であった。[鈴木里和、山根一和、南條友子、近田俊文、柴田尚宏、粕谷裕子]

#### レファレンス業務

##### ・薬剤耐性菌関係

##### 1. バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)検査のためのコントロール菌株及び標準作業手順書(SOP)の提供

地方衛生研究所等の遺伝子検査等に協力するために、VREの耐性遺伝子検出のコントロール菌株(DNA抽出物を含む)及びSOPを、地方衛生研究所等に提供した。[近田俊文、鈴木里和、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親]

##### 2. 薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査のためのコントロール菌株及び検査データ資料の提供

地方衛生研究所及び医療機関等の基質特異性拡張型-ラクタマーゼ産生菌の遺伝子検査等に協力するために、それらのコントロール菌株を検査データ資料とともに提供した。[近田俊文、柴田尚宏、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、山根一和、鈴木里和、荒川宜親]

##### 3. 臨床分離株の耐性遺伝子に関する検査

全国の医療機関より依頼を受け、薬剤耐性菌のPCR法による、-ラクタマーゼ遺伝子解析を行った。解析結果は、主にIMP-1型メタロ- -ラクタマーゼ産生菌やCTX-M型-ラクタマーゼ産生菌であった。一方、クラスC型-ラクタマーゼ産生菌やVIM-1型メタロ- -ラクタマーゼ産生菌など稀ではあるが、臨床分離株から確認された。[柴田尚宏、瀧世志江、甲斐久美子、吉村由美子、山根一和、鈴木里和、近田俊文、荒川宜親]

##### ・ジフテリア・百日咳・ボツリヌス関係

##### 1. ジフテリア百日咳ボツリヌスレファレンスセンター業務

第28回衛生微生物技術協議会研究会(岡山市)において、ジフテリア百日咳ボツリヌスレファレンスセンター会議(関連会議を含む)に出席し、3疾患についての平成19年度の活動内容および平成20年度の活動予定を報告した(平成19年7月)。[見理 剛、岩城正昭、山本明彦、蒲地一成、高橋元秀]

## 2. 百日咳 LAMP 診断キットの配布

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、百日咳レファレンスセンター（3施設）と高知大学医学部に百日咳 LAMP 診断キットの配布を行った。[ 蒲地一成、鰐坂裕美 ]

## サーベイランス業務

### ・院内感染対策関係

#### 1. 院内感染対策サーベイランスの実用性・実効性に関する研究

厚生労働省事業・院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）において、システムの有用性および有効性向上のための研究を実施した。本年度は、2007年7月にシステムの大幅な更新とともに運営体制を整備し、参加医療機関の新規募集を行った。また、サーベイランスデータの精度管理に必要な要因についての検討を行った。[ 鈴木里和、山根一和、宮永由弥子、瀧世志江、荒川宜親 ]

#### 2. 埼玉県内の医療機関におけるバンコマイシン耐性腸球菌の保菌状況調査

埼玉県下の13医療機関において、入院患者を対象にバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の保菌調査を行った。対象となった患者は1,318人で調査期間中に入院していた患者の36.9%であった。VRE保菌患者は14名で3医療機関に入院していた。バンコマイシン耐性遺伝子はすべての菌株で *vanA* 陽性であったが、表現型は VanB 型（バンコマイシン耐性、テイコプラニン感性）であった。PFGE による解析の結果、2医療機関で分離された VRE は遺伝学的に近縁の株であることが明らかとなった。[ 山根一和、鈴木里和、荒川宜親 ]

#### 3. バンコマイシン耐性腸球菌の効率的なスクリーニング方法に関する研究

VRE 選択培地へ検体を直接接種する方法と増菌培養後に VRE 選択培地に接種する方法とを行ない、検体採取方法（採便と直腸スワブ3回）と合わせて比較検討した。増菌培養による検出率の上昇は便、直腸スワブの両検体いずれにおいても認められなかった。有意差は認めなかったものの直腸スワブ検体の方が便検体よりも検出率が高かった。これらの結果から入院患者における VRE の保菌調査をする際には、対象者から直腸スワブを3回採取し、寒天平板 VRE 選択培地に直接検体を塗布し培養する方法が検出率も高く効率的であると考えられた。[ 鈴木里和、山根一和、荒川宜親 ]

#### 4. 中小規模病院における院内感染対策支援のありかたに関する研究

190床の中規模の協力医療機関の細菌検査室のデータを解析した情報を還元するとともに、医療スタッフのより能動的な感染対策への関与を促す体制について検討を行った。結果として、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離率が有意に減少し、中小規模病院に対しての感染対策のあり方についての知見が得られた。[ 鈴木里和、山根一和 ]

### ・BCG 製剤関係

#### 1. BCG 製剤による副反応報告

日本における BCG ワクチン接種と小児糖尿病との関連についての論文が外国の研究者より発表されたが、データの解釈で明らかな誤りが認められ信憑性に欠けると結論づけ、その旨感染症情報検討委員会に報告した。しかし BCG 接種による各種副反応については今後も注意深く見守る予定である。[ 持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、柴山恵吾、荒川宜親 ]

### ・百日咳関係

#### 1. 百日咳菌の同定検査

医療機関からの依頼を受けて、百日咳菌の同定検査を2件実施した。[ 蒲地一成、鰐坂裕美、福田 靖 ]

#### 2. 百日咳の病原体診断

医療機関（10施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を91件実施した。[ 鰐坂裕美、蒲地一成、福田 靖 ]

## 品質管理に関する業務

### ・生物学的製剤の品質管理に関する業務研究

#### 1. 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）の多糖含量試験のための設備・機器の整備並びに条件検討

2007年1月下旬に承認された本ワクチンの国家検定項目である多糖含量試験を担当するため、プログラム機能付きブロックヒーター、スクラパー付き耐酸・耐熱・耐蝕ドラフトチャンバーなど、必要な機器、設備及び器材を新たに整備した。これらを用いて、検体を完全に無機化するための条件を検討し、無機リンとしての呈色反応により多糖を定量する方法を確立した。[ 新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、増田まり子、佐々木次雄 ]

#### 2. 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド

結合体) 国家検定のための標準作業手順書 (SOP) の作成

本ワクチンの国家検定開始に備えて、製剤担当室並びに多糖含量試験の試験担当室として、製剤担当室業務、多糖含量試験、作業室ならびに機器の管理、教育・訓練に関する各 SOP を新たに作成した。[ 佐々木裕子、加藤はる、新谷三春、増田まり子、佐々木次雄 ]

3 . 乾燥BCG (皮内用) の皮膚反応試験における判定方法の設定

ユニセフ向けBCGワクチンにおいて実施している皮膚反応試験 (依頼試験) の判定における統計処理方法の検討を行い、平行線定量法 (Bioassay assist) によることとした。[ 森茂太郎、柴山恵吾、持田恵子、堀野敦子 ]

4 . BCG製剤の新しい力価試験方法の検討

BCGの力価試験において、小川培地に代わって7H10平板を用いて培養を行う方法を検討した。最適な培養条件を決定し、小川培地を用いる方法との相関を調べた。今後、さらにデータを蓄積し、適切な統計処理方法を検討する予定である。[ 柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子 ]

5 . BCG力価試験、有毒結核菌否定試験、ツベルクリン力価試験での品質管理

BCG力価試験は、BCGワクチン9ロット、膀胱用BCG (日本株) 2ロット、膀胱用BCG (イムシスト株) 4ロットについて試験を行い、全て合格だった。有毒結核菌否定試験は、BCGワクチン13ロット、膀胱用BCG (日本株) 3ロット、膀胱用BCG (イムシスト株) 3ロットについて試験を行い、すべて合格だった。ツベルクリン力価試験は、9ロットについて試験を行い、全て合格だった。9ロット中1ロットは再試験を行い合格となった。[ 持田恵子、森茂太郎、堀野敦子、本郷有美子、柴山恵吾 ]

6 . 諸外国におけるワクチンの国家管理制度の調査

諸外国におけるワクチンの国家管理制度を欧州、アジアの7ヶ国について調査を実施した。今回の調査対象国製造及び試験記録の要約版 (サマリーロットプロトコル) については全ロット評価を行い、品質の均質性を担保していた。戦後60年間続いたわが国の国家検定制度と諸外国の国家管理制度の間にはかなり違いのあることが明らかになった。また、わが国の国家検定における品質管理の現状を国外に発信するために「国家検定における品質マネジメントシステム」の英訳版を作成した。[ 高橋元秀、

佐々木次雄、堀内善信、布施 晃、渡辺治雄、厚生労働科学研究費補助金：医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業 ]

#### ・抗生物質製剤の品質管理に関する業務研究

1 . 収去検査による抗生物質医薬品の品質管理研究

今年度の医薬品等一斉監視指導での収去検査は、抗生物質医薬品の注射剤 (注射用スルパクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム:8ロット) について力価試験、確認試験 (IR 及び NMR 解析) エンドトキシン試験を、経口剤 (セフジニルカプセル:3ロット/セフジニル細粒:2ロット) について力価試験、確認試験 (IR 及び NMR 解析) を行い、検査結果を報告した。注射用スルパクタムナトリウム・アンピシリンナトリウムの力価試験 (HPLC のシステム適合性) とセフジニルカプセルの確認試験 (NMR 解析) で一部コメントを付けた。収去製剤の全ての試験で「適合」と判定された。なお、セフジニル製剤の HPLC 力価試験については、生物活性物質部の試験担当が行えるように、研修を行って共同で実施した。[ 近田俊文、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室、生物活性物質部 ]

#### ・標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

1 . 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条 (原薬) 収載の円筒平板法及び比濁法による微生物学的力価試験法 (Bioassay) に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め7品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。また、局外規の抗生物質標準品 (2品目) についてもサブロット更新を行った。[ 鈴木里和、山根一和、南條友子、柴田尚宏、粕谷裕子、近田俊文 ]

2 . 抗生物質医薬品標準品の日本薬局方液体クロマトグラフィー法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条 (原薬) 収載の液体クロマトグラフィー法 (HPLC) に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め15品目の評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。更に、日局の紫外可視吸光度測定法に準拠した定量法による品質評価試験も1品目で完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。[ 柴田尚宏、山根一和、粕谷裕子、鈴木里和、南條友子、近田俊文 ]

3. 日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 7 候補品の力価評価

日本公定書協会が日本薬局方エンドトキシン標準品 (Lot 7) 候補品が調製され、標準プロトコールに準じて、日本公定書協会、当研究室他 (計 7 機関) で力価共同評価を実施した。WHO エンドトキシン国際標準品に対する相対力価を 3 種のライセート試薬を用いて標準化を行い、エンドトキシン標準品 Lot 7 候補品の単位は 20,000 EU/vial と評価された。[ 落合雅樹、堀内善信、村井敏美・中川ゆかり (日本公定書協会) ]

4. マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチンのロット更新

現行のマウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン Lot 3 の残数減少にともない、新たに製造した Lot 4 候補品の単位を制定するため、共同評価プロトコールに従い感染研及び国内ワクチン製造所 (計 5 施設) で試験を実施した。その結果、Lot 4 候補品は Lot 3 と同等の 12 単位 / バイアルと評価された。その後、マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン (Lot 4)、125 箱 (1,500 本) の製造報告を行った。[ 落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、鰐坂裕美、堀内善信 ]

5. 参照百日せきワクチン (毒性試験用) のロット更新

昨年度に評価された参照百日せきワクチン (毒性試験用) Lot 3 について、ロット更新 3,350 本の製造報告を行った。[ 落合雅樹、蒲地一成、福田 靖、山本明彦、鰐坂裕美、堀内善信 ]

・国家検定、国家検査、収去検査、特別審査、依頼試験等の実績

1. 国家検定の実績

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン (最終段階): 31 ロット

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド: 7 ロット

沈降破傷風トキソイド: 9 ロット

成人用沈降ジフテリアトキソイド: 1 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用するジフテリアトキソイド原液: 7 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに使用する破傷風トキソイド原液: 7 ロット

乾燥まむしウマ抗毒素: 2 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン: 4 ロット

ガスえそウマ抗毒素: 1 ロット

インフルエンザ HA ワクチン: 75 ロット

コレラワクチン: 1 ロット

人血清アルブミン: 263 ロット

加熱人血漿たん白: 24 ロット

肺炎球菌ワクチン: 7 ロット

乾燥BCGワクチン (最終製品) 80mg: 3 ロット

乾燥BCGワクチン (最終製品) 12mg: 6 ロット

乾燥BCG膀胱内用 (日本株) (最終製品) 80mg: 1 ロット

乾燥BCG膀胱内用 (日本株) (最終製品) 40mg: 1 ロット

乾燥BCG膀胱内用 (コンノート株): 4 ロット

乾燥BCGワクチン (中間段階): 13 ロット

乾燥BCG膀胱内用 (日本株) (中間段階): 3 ロット

精製ツベルクリン一般診断用 (1 µg): 1 ロット

精製ツベルクリン一般診断用 (一人用): 8 ロット

2. 国家検査 (行政検査) の実績

(1) 薬剤耐性菌関係

埼玉県から、バンコマイシン耐性腸球菌の院内感染の疑いのため、バンコマイシン耐性腸球菌 (合計 64 検体) のパルスフィールドゲル電気泳動による検査データの提供を受け、制限酵素地図 (PFGE 型) 検査のタイピング解析結果を報告した。[ 細菌行政検査: 第 77034 号 ] [ 鈴木里和、近田俊文、荒川宜親 ]

(2) ジフテリア関係

平成 19 年 5 月 18 日付で、信楽園病院 (新潟県) から菌株 (レフレル培地と HI 培地培養) を受領し、菌株の同定試験依頼を受けた。受理した菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。[ 細菌行政検査: 第 77018 号 ] [ 小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀 ]

(3) 破傷風関係

ア) 平成 19 年 4 月 2 日付で、千葉市環境衛生研究所から患者血清 1 本と髄液 1 本 (平成 19 年 3 月 27 日採血) を受領し、血清内の破傷風毒素の検出と破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。[ 細菌行政検査: 第 77003 号 ] [ 山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀 ]

イ) 平成 20 年 3 月 14 日付で、茨城県衛生研究所から患者血清 1 本 (平成 20 年 2 月 29 日採血) を受領し、血

## 細菌第二部

清内の破傷風毒素の検出と破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。[細菌行政検査：第 77159 号][山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

### (4) ボツリヌス関係

ア)平成 19 年 1 月に岩手県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、岩手県知事名で行政検査の依頼を受けた(平成 19 年 5 月 25 日付)。4 月 17 日採取の患者便からは A 型ボツリヌス毒素を検出したが、5 月 11 日および 5 月 31 日に採取された便からは毒素は検出されなかった。[細菌行政検査：第 77019 号][見理 剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀]

イ)平成 19 年 11 月に茨城県で発生した乳児ボツリヌス症に関して、茨城県知事名で行政検査の依頼を受けた(平成 19 年 11 月 8 日付)。一連の検査で、患者便から A 型ボツリヌス毒素とボツリヌス菌(A 型毒素産生性)を検出した。また、患者宅で使用されていた食材の残りや調理器具、ハウスダストなどについても検査したが、ボツリヌス毒素、菌は検出できなかった。[細菌行政検査：第 77103 号][見理 剛、岩城正昭、山本明彦、高橋元秀]

### (5) BCG関係

ア)依頼検査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg)6ロットについて実施した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子]

イ)書類審査として、ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg)47ロットについて実施した。[柴山恵吾、持田恵子、森茂太郎、堀野敦子]

## 3. 収去検査の実績

### (1) 抗生物質医薬品

注射剤(注射用スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム):8ロット

経口剤(セフジニルカプセル):3ロット

経口剤(セフジニル細粒):2ロット

## 4. 抜取り検査等の実績

(1) 無菌試験:9ロット

## 5. 標準品、参照品等の交付・分与の実績

### (1) 交付実績

日本薬局方抗生物質標準品(92品目):計874本

日本薬局方外医薬品規格標準品(1品目):計2本

抗生物質試験用菌株(1品目):計1本  
標準ジフテリアトキソイド:4本  
標準沈降ジフテリアトキソイド:32本  
参照沈降ジフテリアトキソイド(混合ワクチン用):86本

標準ジフテリア抗毒素:15本

参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用):43本

シック試験毒素(動物用):4本

ジフテリア試験毒素(培養細胞法用):7本

標準破傷風トキソイド:5本

標準沈降破傷風トキソイド:72本

参照沈降破傷風トキソイド(混合ワクチン用):39本

標準破傷風抗毒素:10本

標準抗破傷風人免疫グロブリン:3本

参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用):62本

破傷風試験毒素:17本

標準はぶ抗毒素:6本

ジフテリア試験毒素(ウサギ用):6本

標準ボツリヌス A 型抗毒素:1本

標準ガスエソ抗毒素 *C. perfringens* Type A:4本

標準ガスエソ抗毒素 *C. septicum*:4本

標準ガスエソ抗毒素 *C. oedematiens*:4本

ガスエソ試験毒素 *C. perfringens* Type A:8本

ガスエソ試験毒素 *C. septicum*:13本

ガスエソ試験毒素 *C. oedematiens*:8本

標準百日せきワクチン:52本

参照百日せきワクチン(毒性試験用):91本

マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチン:1箱(12本)

標準精製ツベルクリン:20本

BCG Tokyo172-1:10本

### (2) 分与実績

標準ジフテリア抗毒素(岡山県環境保健センター):2本

ジフテリア試験毒素(培養細胞法用)(岡山県環境保健センター):2本

*Corynebacterium diphtheriae* PW 8(山口県環境保健センター):1本

*Corynebacterium ulcerans*(ジフテリア毒素産生株)(大阪府立公衆衛生研究所):1本

診断用ボツリヌス抗毒素:A, B, E, F 型(国内15ヶ所のボツリヌスレファンスセンターへ配布):各3本

ボツリヌス毒素検出用試薬(ラテックス PA 法試薬):A, B, E 型(国内15ヶ所のボツリヌスレファンスセンタ

一へ配布): 各 5 本

## 6. 依頼試験等の実績

### (1) ジフテリア関係

ア)平成 19 年 9 月 6 日付で、新潟県信楽園病院からジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株はジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は 0.0243 IU/ml であった。[小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

イ)平成 19 年 9 月 13 日付で、新潟県信楽園病院からジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は、初発時(5月8日)と再発時(9月8日)でそれぞれ 0.0039 IU/ml の検出感度以下であった。[小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

ウ)平成 19 年 10 月 2 日付で、新潟県信楽園病院から、ジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、受理した菌株はジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* mitis 型と同定された。また、同時に送られた血清中のジフテリア抗毒素価は、0.0232 IU/ml (9月26日)と 0.0328 IU/ml (10月9日)であった。前述 3 患者から分離した菌株をパルスフィールド電気泳動で解析した結果、1 例目の患者の初発時と再発時の株が同じタイプであり、2 例目と 3 例目の株が同じタイプであった。[小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

エ)平成 20 年 2 月 8 日付で、昭和大学医学部附属藤が丘病院(神奈川県)から、ジフテリアの疑患者の血中ジフテリア抗毒素価の検査依頼を受けた。検査の結果、0.0051 IU/ml(1月10日)および 0.0814 IU/ml(2月4日:グロブリン製剤投与後血清)であった。また、血清からジフテリア毒素は検出されなかった。[小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

オ)平成 20 年 3 月 7 日付で、弘前市立病院(青森県)から、ジフテリアの疑い患者から分離した菌株の同定検査依頼を受けた。検査の結果、16S rRNA とアピコリネによる同定試験結果から、*Corynebacterium kroppenstedtii* または *C. argentratense* と推定された。[小宮貴子、岩城正昭、見理 剛、山本明彦、高橋元秀]

### (2) 破傷風関係

ア)平成 19 年 9 月 3 日付で、岩手医科大学付属病院から患者血清 2 本(7月18日及び9月3日採血)の破傷風毒素の検出および同患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者血清中には、マウスを用いた毒素原性試験による検出限界以下であった。患者創部より検出された菌種の精査の結果、破傷風毒素産生菌ではなかった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

イ)平成 19 年 5 月 17 日付で、KKR 札幌医療センターから患者血清(4月29日採血)の破傷風毒素の検出および破傷風抗毒素価測定依頼を受けた。血中破傷風毒素は、マウスを用いた毒素原性試験法による検出限界以下であった。一方、破傷風抗毒素価は KPA 法で測定レベル以下であった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

ウ)平成 19 年 9 月 12 日付で、東海大学医学部付属病院から患者創部より分離された菌の同定の依頼を受けた。患者創部より検出された菌について、その培養上清はマウスを用いた毒素原性試験による検出限界以下であった。PCR 法による遺伝子検査によっても破傷風毒素は検出されなかった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

エ)平成 19 年 11 月 22 日付で、岡山県赤磐医師会病院より患者血清(10月15日採血)の破傷風毒素の検出および創部組織からの菌検出について依頼を受けた。患者血清中の破傷風毒素はマウスを用いた毒素原性試験の検出限界以下であった。一方、患者創部組織の培養菌液には破傷風菌は検出されなかった。[山本明彦、岩城正昭、見理 剛、高橋元秀]

### (3) ボツリヌス関係

細菌行政検査(第 77103 号)に付随して、患者の予後を見るため茨城県土浦保健所より患者便中のボツリヌス毒素、菌検出検査依頼を受けた。検査は 12 月 6 日以降ほぼ 2 週間ごと実施した。患者の症状は発症後 2 ヶ月程度で軽快したものの、便からのボツリヌス毒素の検出は約半年間続き、20 年 5 月 13 日の検査(12 回目)で陰性化した。[見理 剛、山本明彦、岩城正昭、高橋元秀]

### (4) マイコプラズマ関係

平成 19 年 5 月 30 日に大阪市の北野病院より乳児髄膜炎患者から分離された *Mycoplasma hominis* を疑う菌の同定試験および薬剤感受性試験の依頼を受けた。試験は大阪府公衆衛生研究所と連携して実施し、16S rRNA 遺伝子の分析から分離菌は *M. hominis* であると同定した。またこの菌に対する各種抗菌薬の MIC、MBC 値を測定した。[見理 剛、佐々木裕子、堀野敦子]

## 国際協力関係業務

### ・WHO 関連

1. WHO・WPRO の要請を受けて、パプアニューギニアで発生した百日咳患者（4 検体）について病原体診断を実施した（平成 19 年 12 月）[ 鮎坂裕美、蒲地一成 ]
2. 精製百日せきワクチンの試験標準化のための WHO ワーキンググループ会議（北京）に出席した（平成 19 年 11 月）[ 堀内善信 ]
3. 英国 NIBSC 主催の「生物製剤の標準化とその原理」研修に参加した。日常業務である標準品の作製・維持に関して知識を体系的に整理できたと同時に、感染研（予研）設置以来行なわれている生物製剤品質管理の重要性をあらためて認識した（平成 20 年 3 月）[ 岩城正昭 ]

### ・JICA 関連

1. JICA の依頼により、ワクチン品質管理技術コース参加研修生（海外 5 名）にワクチンの品質管理について講義した（平成 19 年 11 月）[ 高橋元秀、堀内善信、佐々木裕子、荒川宜親 ]
2. JICA の依頼により、薬剤耐性病原体の実験室診断コース参加の海外研修生に VRE、*Clostridium difficile*、*-*ラクタマーゼ産生菌、フルオロキノロン耐性菌、耐性菌アウトブレイクにおける疫学的対応に関する講義を行った（平成 19 年 12 月）[ 加藤はる、柴田尚宏、山根一和、鈴木里和、荒川宜親 ]
3. JICA 広州院内感染プロジェクト Cao Jun 研修生に対してジフテリア、ボツリヌスの実験室診断の技術研修を実施した（平成 19 年 12 月）[ 山本明彦、見理 剛、岩城正昭、高橋元秀 ]
4. パキスタン NIH で JICA が実施しているパキスタン国 EPI / ポリオ対策プロジェクトの支援として「拡大予防接種計画（EPI）強化プロジェクトのフォローアップに関する研究」の分担研究者としての調査研究を実施した（平成 20 年 2 月）[ 高橋元秀 ]

### ・研修・講義関連

1. ルーマニア National Institute of Research-Development for Microbiology and Immunology “Cantacuzino” の研究者 2 名に国内 DPT の製造と品質管理の現状について講義した（平成 19 年 11 月）[ 高橋元秀、佐々木次雄 ]

2. ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology, Department of Microbiology の Ms. Hoang Thi Thu Ha 研修生に対してボツリヌスの実験室診断の技術研修を実施した（平成 19 年 12 月）[ 見理 剛、山本明彦、高橋元秀 ]

3. 台湾 CDC の Mr. Chein-Hsin Liu 研修生に対して蛇抗毒素製剤の品質管理の技術研修を実施した（平成 20 年 2 月）[ 山本明彦、見理 剛、高橋元秀 ]

4. 韓国 NIH の招聘依頼を受けて、第 1 回感染症に関する国際シンポジウムでボツリヌス症の診断等について講演した（平成 19 年 6 月）[ 高橋元秀 ]

5. 台湾 Bureau of Food and Drug Analysis (BFDA) の招聘依頼を受けて、日本国内のボツリヌス抗毒素の受給体制と品質管理の現状について講演した（平成 19 年 9 月）[ 高橋元秀 ]

6. 米国カリフォルニアで開催された Interagency Botulism Research Coordinating Committee に参加し、複合筋活動電位測定によるボツリヌス毒素中和抗体価の定量化法を発表した（平成 19 年 10 月）[ 高橋元秀 ]

7. ジフテリア国際ネットワーク DIPNET の活動の一環として、英国 HPA で行なわれた「ジフテリア実験室診断ワークショップ」に参加した。他国の状況と比較し、日本のジフテリア実験室診断が高水準であることを確認した（平成 19 年 10 月）[ 岩城正昭 ]

## 研修業務

### ・薬剤耐性菌に関する研修

1. 薬剤耐性菌の検出を目的として、主に病院で臨床細菌検査室に従事する臨床検査技師を対象に、所外から実習生、研究生を受け入れた。内容は、主に *-*ラクタマーゼ産生菌（基質特異性拡張型およびメタロ- *-*ラクタマーゼ）の鑑別のための、ディスク拡散法による鑑別、PCR による耐性遺伝子の検出、プラスミドプロファイル解析、パルスフィールド電気泳動によるタイピングなど行った。臨床現場での薬剤耐性菌の早期検出や院内感染対策に役立つものと期待される。[ 柴田尚宏、荒川宜親 ]

### ・*Clostridium difficile* に関する研修

1. 検査技師、医師、看護師を対象として、依頼に応じて *Clostridium difficile* 分離培養、タイピング、PCR、LAMP による毒素遺伝子の検出を中心とした *C. difficile* の細菌

## 細菌第二部

学的検査の実技研修を行った。[加藤はる]

### ・品質管理に関する講義

1. 国立保健医療科学院（埼玉県）における短期研修薬事衛生管理研修コース（受講者 31 名）において、生物学的製剤の品質保証の現状について講義した（平成 19 年 6 月）。[高橋元秀]

2. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構（東京都）の職員初任者研修会（受講者 23 名）において、細菌製剤の検定について講義した（平成 20 年 1 月）。[高橋元秀]

### その他

#### ・行政科学に対する対応

1. 日本薬局方の抗生物質委員会、標準品委員会に関する活動

独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、日本薬局方原案審議委員会の抗生物質委員会及び標準品委員会に出席し、第 15 改正日本薬局方（追補を含む）の収載案及び改正案の審議に従事した。[近田俊文]

2. 日本薬局方の生物試験法委員会、製薬用水委員会に関する活動

独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員として、生物試験法委員会に 5 回、製薬用水委員会に 4 回出席し、第 15 改正日本薬局方第二追補収載案件について審議した。また、微生物限度試験法並びに無菌試験法の国際調和にあたった。[佐々木次雄]

3. ISO/TC198 に関する活動

ヘルスケア製品の滅菌及び滅菌保証に関するワーキンググループ（WG）として、WG8（微生物試験法）と WG9（無菌操作法）の活動に参加し、国際規格の作成にあたった。[佐々木次雄、他関係 WG 委員]

4. 無菌医薬品の製造に関する指針作成

平成 19 年 6 月 4 日に監視指導・麻薬対策課より地方庁に発出された「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」の英訳版の作成を行った。先に作成した「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」とともに、無菌医薬品の製造に関する指針の和文及び英訳版が揃った。[佐々木次雄、佐々木裕子、他指針作成委員]

5. 動物用生物学的製剤調査会に関する活動

薬事・食品衛生審議会薬事分科会、動物用医薬品等部

会、動物用生物学的製剤調査会が 4 回開催され出席した。

[高橋元秀]

### ・感染症等についての対応

1. 薬剤耐性菌等についての対応

検査診断や院内感染を中心に E-mail や電話等による質問、相談に個別に対応し、回答を行った。[荒川宜親、第一室]

2. *Clostridium difficile* 感染症についての対応

検査診断や施設内感染に関する事項を中心に、E-mail や電話等による質問、相談に個別に回答した。[加藤はる]

3. 抗生物質医薬品の試験法についての対応

日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格（第四部）及び旧日本抗生物質医薬品基準に収載された抗生物質医薬品（標準品を含む）の試験法等についての照会に対して、E-mail 等による書面での回答を行った。[近田俊文]

## 発表業績一覧

### ・誌上発表

1. 欧文発表

1 ) Moriguchi N., Itahashi Y., Tabata N., Yamazumi T., Furuta I., Shibata N., Arakawa Y., Miyata H.: Outbreak of CTX-M-3-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* in a pediatric ward. *J Infect Chemother*, 13(4), 263-266, 2007.

2 ) Yamane K., Rossi F., Barberino MG., Adams-Haduch JM., Doi Y., Paterson DL.: 16S ribosomal RNA methylase RmtD produced by *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. *J Antimicrob Chemother*, 61(3): 746-7, 2008.

3 ) Doi Y., Adams JM., Yamane K., Paterson DL.: Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(11): 4209-10, 2007.

4 ) Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Kimura K., Kai K., Ishikawa S., Ozawa Y., Konda T., Arakawa Y.: 16S rRNA methylase-producing, gram-negative pathogens, Japan. *Emerg Infect Dis*, 13(4): 642-6, 2007.

5 ) Yamane K., Wachino J., Suzuki S., Kimura K., Shibata N., Kato H., Shibayama K., Konda T., Arakawa Y.: New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(9): 3354-60, 2007.



- 6 ) Wachino J., Shibayama K., Kurokawa H., Kimura K., Yamane K., Suzuki S., Shibata N., Ike Y., Arakawa Y.: Novel plasmid-mediated 16S rRNA m1A1408 methyltransferase, NpmA, found in a clinically isolated *Escherichia coli* strain resistant to structurally diverse aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*, 51(12): 4401-9, 2007.
- 7 ) Yamazaki T., Sasaki T., Takahara M.: Activity of Garenoxacin against macrolide-susceptible and -resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, 2278-2279, 2007.
- 8 ) Huong PLT., Thi NT., Nguyet NTT., Van TK., Hang DT., Huong VTT., Anh DD., Sasaki T.: First report on clinical features of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Vietnamese children. *Jpn J Infect Dis*, 60: 370-373, 2007.
- 9 ) Okazaki N., Ohya H., Sasaki T.: *Mycoplasma pneumoniae* Isolated from Patients with Respiratory Infection in Kanagawa Prefecture in 1976-2006: Emergence of Macrolide-Resistant Strains. *Jpn J Infect Dis*, 60: 325-326, 2007.
- 10 ) Seki N., Kasai S., Saito N., Komagata O., Mihara M., Sasaki T., Tomita T., Sasaki T., Kobayashi M.: Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. *Am J Trop Med Hyg*, 77(3): 562-566, 2007.
- 11 ) Sasaki T., Yamamoto F.: Pharmaceutical administration and regulations in Japan. *Validation of Pharmaceutical Processes* (3<sup>rd</sup> ed.), Marcel Dekker, Inc, 683-694, 2007.
- 12 ) Mizutani T., Fukushi S., Kenri T., Sasaki Y., Ishii K., Endoh D., Zamoto A., Saijo M., Kurane I., Morikawa S.: Enhancement of cytotoxicity against Vero E6 cells persistently infected with SARS-CoV by *Mycoplasma fermentans*. *Arch Virol*, 152: 1019-1025, 2007.
- 13 ) Pituch, H., W. van Leeuwen, K. Maquelin, Wultanska, P. D. Obuch-Woszczatynski, G. Nurzynska, H. Kato, M. Reijans, F. Meisel-Mikolajczyk, M. Luczak, A. van Belkum: Toxin profiles and resistances to macrolides and newer fluoroquinolones as epidemicity determinants of clinical isolates of *Clostridium difficile* from Warsaw, Poland. *J Clin Microbiol*, 45 (5): 1607-10, 2007.
- 14 ) Kato H., Kato H., Nakamura M., Nakamura A.: A case of toxic megacolon secondary to *Clostridium difficile*-associated diarrhea worsened after administration of an antimotility agent and molecular analysis of recovered isolates. *J Gastroenterol* 42 : 507-512, 2007.
- 15 ) Sawabe E., H. Kato, K. Osawa, T. Chiba, N. Tojo, Y. Arakawa, N. Okamura: Molecular analysis of *Clostridium difficile* at a university teaching hospital in Japan: a shift in the predominant type over a five-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 26: 695-703, 2007.
- 16 ) Killgore, G., A. Thompson, S. Johnson, J. Brazier, E. Kuijper, J. Pepin, EH. Frost, P. Savelkoul, B. Nicholson, RJ van den Berg, H. Kato, SP. Sambol, W. Zukowski, C. Woods, B. Limbago, DN. Gerding, LC. McDonald: Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol*, 46: 431-437, 2008.
- 17 ) Aina A., Kawase T., Ida A., Maeda Y., Ohba H., Ikeda Y., Sato H., Takahashi M., Chiba J.: Renewal of EBV-hybridoma method: Efficient generation of recombinant fully human neutralization IgG antibodies specific for tetanus toxin by use of tetroma cells. *Human Antibodies*, 15(4): 139-154, 2007
- 18 ) Kobune F., Ami Y., Katayama M., Takahashi M., Tuul R., Korukluoglu G., Kiyohara T., Miura R., Sato H., Yoneda M., Kai C.: A novel monolayer cell line derived from human umbilical cord blood cells shows high sensitivity to measles virus. *J Gen Virol*, May; 88 (Pt 5): 1565-7, 2007
- 19 ) Kenri, T., Okazaki, N., Yamazaki, T., Narita, M., Izumikawa, K., Matsuoka, M., Suzuki, S., Horino, A., Sasaki, T.: Genotyping analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical strains in Japan between 1995 and 2005: type shift phenomenon of *M. pneumoniae* clinical strains. *J. Med. Microbiol*, 57: 469-475, 2008.
- 20 ) Shibayama K., Wachino J., Arakawa Y., Saidijam M., Rutherford N., Henderson P.: Metabolism of glutamine and glutathione via  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase and glutamate transport in *Helicobacter pylori*: possible significance in the pathophysiology of the organism. *Mol. Microbiol*, 64(2): 396-406, 2007.
- 21 ) Han HJ., Kamachi K., Okada K., Toyozumi-Ajisaka H., Sasaki Y., Arakawa Y.: Antigenic variation in *Bordetella pertussis* isolates recovered from adults and children in Japan. *Vaccine*, 26:1530-4, 2008.
- 22 ) Jones, R.G., Ochiai, M., Liu, Y., Ekong, T., Sesardic, D.: Development of improved SNAP25 endopeptidase immuno-assays for botulinum type A and E toxins. *J Immunol Methods*, 329: 92-101, 2008.

- 23) Kawamura-Sato K., Wachino J., Kondo T., Ito H., Arakawa Y.: Reduction of disinfectant bactericidal activities in clinically isolated *Acinetobacter* species in the presence of organic material. *J Antimicrob Chemother*, 61: 568-576, 2008.
- 24) Doi Y., Arakawa Y.: 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides (Review article). *Clin Infect Dis*, 45: 88-94, 2007.

## 2. 和文発表

- 1) 本間 操、柴田尚宏、鈴木智一、荒川宜親：骨髓移植後患者で経験した SHV-12 型と CTX-M-14 型 ESBL 産生 *Enterobacter cloacae* による敗血症の 1 例。日本感染症学雑誌, 81(6), 745-749, 2007.
- 2) 柴田尚宏、荒川宜親：MDRP の耐性機構。臨床と微生物, 34(2), 83-88, 2007.
- 3) 鈴木里和：厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) 新システムについて。インフェクションコントロール, 17(2), 2008.
- 4) 鈴木里和：JANIS・感染対策のためのサーベイランス協力サポートブック。インフェクションコントロール, 春季増刊, 2008.
- 5) 和知野純一、荒川宜親：ESBL 産生菌。感染・炎症・免疫, 37(2): 71-73, Summer, 2007.
- 6) 近田俊文：第 15 薬局方改正点をふまえた抗生物質の微生物学的力価試験法「微生物管理実務と最新試験法」, 技術情報協会, 559-571, 2007
- 7) 佐々木次雄：第 7 節：細菌, 真菌の検出法。エル・アイ・シー, 「バイオ医薬品の品質, 安全性」, 228-235, 2007.
- 8) 佐々木次雄：第 17 回 ISO/TC198 会議報告。医科器械学 489-493, 2007.
- 9) 佐々木次雄：製薬用水の微生物学的試験。大阪医薬品協会会報, 第 708 号：97-124, 2008.
- 10) 佐々木次雄, 岩田浩明, 栃木公太, 久保田真由美：医薬品製造用細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験法の問題点。医薬品研究, 39(5): 299-309, 2008.
- 11) 佐々木裕子, 堀野敦子, 見理 剛, 荒川宜親, 佐々木次雄：Mycoplasma pneumoniae 株間の主要発現蛋白の比較解析。日本マイコプラズマ学会雑誌, 34: 19-20, 2007
- 12) 加藤はる：海外トピック *Clostridium difficile* 流行株 BI/NAP1/027 について。感染制御 JICP, 3(6) :555-560. 2007.
- 13) 加藤はる。*Clostridium difficile* 関連疾患(CDAD) vs ICT. Prologue, *Clostridium difficile* 関連腸炎について。感染対策 ICT ジャーナル, 3(1): 11-18, 2008.
- 14) 佐々木次雄：通則。渡邊治雄編, 生物学的製剤基準解説 2007 年版, じほう, 3-18, 2007.
- 15) 佐々木次雄：無菌試験法。渡邊治雄編, 生物学的製剤基準解説 2007 年版, じほう, 274-281, 2007.
- 16) 佐々木裕子：マイコプラズマ否定試験法。渡邊治雄編, 生物学的製剤基準解説 2007 年版, じほう, 271-273, 2007.
- 17) 新谷三春：乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)。渡邊治雄編, 生物学的製剤基準解説 2007 年版, じほう, 126-130, 2007.
- 18) 見理 剛, 高橋元秀：「最近の乳児ボツリヌス症」。小児科, 48(13), 1999-2004, 2007.
- 19) 落合雅樹：エンドトキシン試験法の設定・実施法と国際調和に向けた動き「微生物管理実務と最新試験法」, 技術情報協会, 537-558, 2007.

## . 学 会 発 表

### 1. 国際学会

- 1) Shibata, N., Suzuki S., Yamane K., Wachino J., Kimura K., Arakawa, Y.: Molecular characterization of both a novel Japan-type CTX-M-3 and IMP-1 b-Lactamase producing *Enterobacter aerogenes* in Japan. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA
- 2) Yamane K., Suzuki S., Wachino J., Arakawa Y.: Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, *qepA* and *qnr*, among *Escherichia coli* clinical isolates in Japan. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA
- 3) Endimiani A., Doi Y., Yamane K., Adams J., Rossi F., Bethel CR., Bonomo RA., Paterson DL.: Spread in a Brazilian hospital of a carbapenem-resistant clonal *Enterobacter aerogenes* strain producing the CTX-M-54 extended-spectrum. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA
- 4) Suzuki, S., Yamane K., Shibata N., Wachino J., Kimura K., Arakawa Y.: Supporting infection control in a small rural area hospital using laboratory based surveillance. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September, 2007, Chicago, USA
- 5) Sasaki, Y., T. Kawakami, A. Horino, T. Kenri, Y. Arakawa, T. Sasaki: Profiling of major mycoplasma proteins by 2DLC-MS/MS, Asian Organization for mycoplasmaology, 18th October, 2007, Anyang, Korea.

6 ) Kato, H., Arakawa, Y.: Detection of the toxin B gene of *Clostridium difficile* in stool specimens by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and direct typing of the *slpA* gene by sequencing. 2nd International *Clostridium difficile* Symposium Slovenia. 2007 June.

7 ) Kato H., H. Kato, Y. Ito, T. Akabane, T. Yokoyama, Y. Arakawa: Typing System for *Clostridium difficile* by sequencing the *slpA* gene and its application to direct typing from stool specimens. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy Chicago. 2007 September

8 ) Gotoh, Y., Y. Torii, M. Takahashi, S. Ishida, T. Sakamoto, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Confirmed Quantification of the Activity of Flaccid Paralysis of Botulinum Neurotoxin by Measuring the Compound Action Potential (CMAP) in Rat. 6th World Congress on Alternative & Animal Use in the Life Sciences. Aug. 2007, Tokyo.

9 ) Torii, Y., Y. Gotoh, M. Takahashi, S. Ishida, T. Sakamoto, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Quantification of Potency of Neutralizing Antibody to Botulinum Toxin by Measuring the Compound Muscle Action Potential (CMAP). 6th World Congress on Alternative & Animal Use in the Life Sciences, Aug. 2007, Tokyo.

10 ) Takahashi, M., Y. Torii, Y. Gotoh, T. Harakawa, A. Ginnaga, S. Kohda, S. Kozaki, R. Kaji: Assay in rat for neutralizing antibody to botulinum toxin by utilizing the compound muscle action potential (CMAP). Interagency Botulinum Research Coordinating Committee Meeting, Nov. 2007, California, USA.

11 )Iwaki M., Komiya T., Saegusa T., Inomata Y., Arakawa Y., Takahashi M.: *Corynebacterium diphtheriae* strain C7 (-) lacks most of PAIs but still shows signs of pathogenicity. 13th European Workshop Meeting on Bacterial Protein Toxins, June 2007, San Martino al Cimino, Italy.

12 ) Wachino J, K. Shibayama, S. Suzuki, Y. Arakawa: Profile of Expression of *Helicobacter pylori* -glutamyltranspeptidase. XXth International Workshop of the European Helicobacter Study Group, Istanbul, Turkey, September, 2007.

13 ) Yamamoto A., Ochiai M., Kamachi K., Kataoka M., Toyozumi H., Arakawa Y., Horiuchi Y.: A clinically relevant in vitro pyrogen test using a human cell line that have the similar responsiveness to various pyrogens to that of human peripheral blood cells (hPBC), The 6<sup>th</sup> World Congress on

Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

14 ) Ochiai M., Yamamoto A., Kataoka M., Toyozumi H., Arakawa Y., Horiuchi Y.: A quantitative *in vitro* assay to detect biological activity of endotoxin using rabbit peripheral blood. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

15 ) Naito S., Ochiai M., Yamamoto A., Maeyama J., Masumi A., Hamaguchi I., Yamaguchi K., Horiuchi Y.: Application of the Limulus Amebocyte Lysate Test to Various Blood Products as an Alternative Method to the Rabbit Pyrogen Test. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

16 ) Horiuchi Y.: A strategic approach for implementing the concept of 3Rs for safety control on pyrogen contamination in biologicals. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Aug. 2007.

## 2 . 国内学会

1 ) 柴田尚宏、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：我が国のグラム陰性桿菌におけるCTX-M-1型グループESBL遺伝子の保有状況と遺伝子周辺構造の解析．第81回日本感染症学会総会、京都、2007年4月．

2 ) 本間操、柴田尚宏、荒川宜親：複数菌種のESBL産生菌が検出された1症例についての検討．第36回薬剤耐性菌研究会、群馬、2007年11月．

3 ) 本間操、鈴木智一、柴田尚宏、荒川宜親：同一患者から3菌種のESBL産生菌が検出された症例についての検討．第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月．

4 ) 常松範子、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-9型ESBL産生*Salmonella enterica* serotype Typhmuriumによる急性胃腸炎の1症例．第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月．

5 ) 高野さかえ、柴田尚宏、荒川宜親、他：第三世代セファロsporin耐性 -ラクタマーゼ産生*Citrobacter freundii*および*Enterobacter cloacae*の検討．第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月．

6 ) 杉本直樹、柴田尚宏、荒川宜親、他：CTX-M-2型 -ラクタマーゼを産生する腸内細菌4菌種の同時検出例．第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月．

7 ) 那須美行、柴田尚宏、荒川宜親、他：踵部褥瘡から検出されたCTX-M-2型 -ラクタマーゼ産生*Proteus mirabilis*について．第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月．

## 細菌第二部

- 8) 岡崎美恵子、柴田尚宏、荒川宜親、他：当院で初めて確認されたメタロ-β-ラクタマーゼ産生緑膿菌による感染症の一例。第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月。
- 9) 山根一和、鈴木里和、和知野純一、荒川宜親：大腸菌の多剤耐性プラスミド上に存在するフルオロキノロン特異的薬剤排出ポンプ(QepA)の解析。第81回日本細菌学会総会、京都、2007年3月。
- 10) 山根一和、和知野純一、鈴木里和、木村幸司、柴田尚宏、荒川宜親：日本の臨床現場で分離された大腸菌のプラスミド性フルオロキノロン耐性遺伝子(qepA, qnr)の保有状況。第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月。
- 11) 木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer DisksおよびPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発。第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 12) 木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disksによるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発およびPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発。第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月。
- 13) 木村幸司：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析。第39回日本小児感染症学会総会、横浜、2007年11月。
- 14) 木村幸司、和知野純一、黒川博史、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：Kirby-Bauer Disksによるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発及びPCR法によるペニシリン低感受性B群連鎖球菌検出法の開発。第36回薬剤耐性菌研究会、群馬、2007年11月。
- 15) 木村幸司、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析。第55回日本化学療法学会総会、仙台、2007年6月。
- 16) 木村幸司、鈴木里和、山根一和、柴田尚宏、荒川宜親：ペニシリン耐性B群連鎖球菌の出現と耐性機構解析。第81回日本感染症学会総会、京都、2007年4月。
- 17) 中谷雅年、山崎勉、高畑正裕、福田淑子、佐々木次雄、満山順一：Mycoplasma pneumoniae に対するGarenoxacinの抗菌活性と標的酵素におけるその阻害効果。第36回薬剤耐性菌研究会、伊香保、2007年11月。
- 18) 佐々木次雄：マクロライド耐性マイコプラズマ肺炎への対応。第90回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007年10月。
- 19) 佐々木次雄：日本薬局方の微生物試験法の最新動向。日本PDA製薬学会主催シンポジウム「日米欧薬局方における微生物試験法の将来展望と微生物迅速試験法技術」、2007年10月。
- 20) 佐々木次雄、山崎勉、佐々木裕子、荒川宜親：PCR-PHFA法によるマクロライド耐性肺炎マイコプラズマ菌の迅速検出。第19回日本臨床微生物学会、東京、2008年1月。
- 21) 佐々木裕子：パラログ遺伝子群にコードされたマイコプラズマ主要抗原リポ蛋白の発現調節による宿主免疫回避機構。第81回日本細菌学会総会、京都、2008年3月。
- 22) 佐々木裕子、堀野敦子、見理剛、荒川宜親、佐々木次雄：Mycoplasma pneumoniae 株間の主要発現蛋白の比較解析。第33回日本マイコプラズマ学会、和歌山、2007年5月。
- 23) 新谷三春、佐々木裕子、加藤はる、佐々木次雄、荒川宜親：ラットを用いたヘモフィルスb型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)の免疫原性試験。第11回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007年12月。
- 24) 加藤はる、荒川宜親：slpA遺伝子配列解析によるClostridium difficileのタイピング法。第81回日本感染症学会総会、京都、2007年4月。
- 25) 加藤はる：シンポジウム I 薬剤耐性菌 話題の耐性菌。グラム陽性菌 2 Clostridium difficile による院内感染とNAP1/027株による世界的流行。岡山、2007年7月。
- 26) 加藤はる：第2回 チーム医療実践セミナー：検査をしていなくて見逃す施設内感染の危険。第39回日本自動化学会、横浜、2007年9月。
- 27) 加藤秀章、中村敦、岩島康仁、二宮茂光、三治宏司、加藤はる：当院で分離されたClostridium difficile についてのslpAタイピングによる検討。第50回日本感染症学会中日本地方学会学術集会、神戸、2007年10月。
- 28) 加藤はる：新感染症レクチャー：Clostridium difficile 感染症と近年の疫学的変化。第90回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007年10月。
- 29) 加藤はる：第4回日本環境感染学会教育委員会講習会：Clostridium difficile 流行株NAP1/027株について。第23回日本環境感染学会総会、長崎、2008年2月。
- 30) 河合浩樹、岩本里美、高山保子、安藤恵子、河合悦子、松井三紀、西口貴恵、原田正弥、三宅孝、加藤はる：経管栄養実施患者におけるClostridium difficileの分離状況と感染防止対策について。第23回日本環境感染学会総会、長崎、2008年2月。
- 31) 牧野みゆき、中村慎吾、永井英雅、長屋博美、千田澄江、澤田幸代、波田野浩史、加藤はる：Clostridium difficile のアウトブレイク発生時に行った感染予防対策

## 細菌第二部

- と今後の課題 第 23 回日本環境感染学会総会、長崎、2008 年 2 月 .
- 32) 齊木由美子、高野さかえ、常松典子、千葉正志、加藤はる：当院で分離された *Clostridium difficile* 菌株の毒素産生パターンの検討 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月 .
- 33) 岩島康仁、中村敦、加藤秀章、和田順子、脇本幸夫、近藤優子、矢野久子、上田龍三、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連下痢症 (CDAD) に対するバンコマイシン投与例の検討 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月 .
- 34) 伊藤陽一郎、松下知路、高橋裕司、中村俊之、林晃司、森田恵理、加藤はる：当院における *Clostridium difficile* 関連疾患の検討 第 38 回日本嫌気性菌感染症研究会、八王子、2008 年 3 月 .
- 35) 小宮貴子、岩城正昭、中村朗、大江健二、中嶋洋、朝倉昇司、大塚喜人、中野忠男、岡崎則男、渡辺祐子、萩原紀子、高橋元秀、荒川宜親：ジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 感染症について、第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月 .
- 36) 高橋元秀：生物学的製剤における実験動物の役割、第 54 回日本実験動物学会総会、東京、2007 年 5 月 .
- 37) 勝川千尋、小宮貴子、岩城正昭、高橋元秀：本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* . 第 81 回日本感染症学会総会、京都、2007 年 4 月 .
- 38) 坂本崇、原川哲博、銀永明弘、小崎俊司、高橋元秀、梶龍兒：低分子量ボツリヌス神経毒素製剤の開発と CMAP による評価、第 48 回日本神経学会総会、名古屋、2007 年 5 月 .
- 39) 見理 剛：日本におけるマイコプラズマ肺炎の発生状況、日本マイコプラズマ学会第 34 回学術集会、和歌山、2007 年 5 月 .
- 40) 西坂崇之、水谷佳奈、中根大介、見理剛、矢島潤一郎、宮田真人、政池知子：細胞と分子モーターの動きを画像化する新しい顕微鏡技術、日本マイコプラズマ学会第 34 回学術集会、和歌山、2007 年 5 月 .
- 41) 坂本崇、原川哲博、銀永明弘、鳥居恭司、後藤剛孝、小崎俊司、高橋元秀、梶龍兒：ボツリヌス神経毒素製剤品質管理のための CMAP 定量化、第 37 回日本臨床神経生理学会・学術大会、宇都宮、2007 年 11 月 .
- 42) 岩城正昭、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：ジフテリア菌 C7 (-) 株は pathogenicity islands の大部分を欠くが病原性の兆候を残している、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 43) 山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀：日本国内の土壌での破傷風菌分離、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 44) 前山順一、小宮貴子、高橋元秀、井坂雅人徳、山本三郎：ジフテリアトキソイドに対する新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 の粘膜アジュバント作用、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 45) 中根大介、見理剛、宮田真人：*Mycoplasma pneumoniae* の細胞骨格電子顕微鏡像の平均化と構成タンパク質の特定、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 46) 小宮貴子、岩城正昭、荒川宜親、高橋元秀、畑中章生、角田篤信：目でみる感染症、参考症例：*Corynebacterium ulcerans* 感染症、第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 2 月 .
- 47) 山本明彦、岩城正昭、見理剛、小宮貴子、荒川宜親、高橋元秀、城川雅光、渋谷泰寛、武田淳史、光定誠：目でみる感染症、*Clostridium tetani* が痂皮から検出された破傷風、第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 2 月 .
- 48) 森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親：結核菌由来ポリリン酸キナーゼの機能と結晶化、第 59 回日本生物工学会大会、広島、2007 年 9 月 .
- 49) 森茂太郎、柴山恵吾、朴貞玉、荒川宜親：結核菌由来ポリリン酸キナーゼの機能解析、第 90 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2007 年 10 月 .
- 50) 柴山恵吾、荒川宜親、山本三郎：BCG 製剤に含まれる 2 種類のパリアント株のリアルタイム PCR による定量、第 11 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2007 年 12 月 .
- 51) 朴貞玉、柴山恵吾、森茂太郎、荒川宜親：*Mycobacterium avium* より見出された新規 Insertion Sequence の解析、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 52) 堀野敦子、山根一和、岡村登、荒川宜親：*Burkholderia* 属疑い臨床分離株の細菌学的解析、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 53) 柴山恵吾、和知野純一、鈴木里和、荒川宜親：*Helicobacter pylori* の  $\alpha$ -glutamyltranspeptidase の発現様式、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 54) 韓賢子、蒲地一成、桑江朝臣、阿部章夫、荒川宜親：百日咳流行株におけるタイプ III エフェクター BopC の発現差異について、第 81 回日本細菌学会総会、京都、2008 年 3 月 .
- 55) 蒲地一成、荒川宜親：スライド凝集反応における *Bordetella pertussis* の自然凝集と菌型の関係について、第 19 回日本臨床微生物学会総会、東京、2008 年 1 月 .
- 56) 蒲地一成、岡田賢司、豊泉裕美、佐々木裕子、荒川

宜親：成人層から分離された百日咳菌の分子疫学的解析 .  
第 11 回日本ワクチン学会学術総会、横浜、2007 年 12 月 .  
57) 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、  
内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、  
滝澤和也、水谷哲也、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、  
野村信夫、渡辺慎哉、山口一成：遺伝子発現解析  
(QuantiGene Plex) 法を用いたワクチンの新しい安全性  
評価法確立の試み、第11回日本ワクチン学会総会、横浜、  
2007年12月 .

March 2008, Lanzhou Institute of Biological Products and  
Wuhan Institute of Biological Products, China.

12) Horiuchi Y.: Regulatory guidelines and expectations on  
vaccine quality in Japan. アジアワクチン会議 . 北京、2008  
年11月 .

### 3 . 講演・講義

1) 柴田尚宏：新しい  $\beta$ -ラクタマーゼの検出法について .  
平成 19 年度東関東耐性菌研究会、千葉、2007 年 5 月 .

2) 加藤はる：院内感染と日和見感染 . 化学・生物総合  
管理の再教育講座、生物総合評価管理学概論、東京 2007  
年 5 月 .

3) 加藤はる：Clostridium difficile による院内感染—そも  
そもどんな感染症なの？—第 7 回横浜感染対策看護セミ  
ナー、横浜、2007 年 7 月 .

4) 加藤はる：Clostridium difficile 感染症と細菌学的検査 .  
平成 19 年度静岡県臨床衛生検査技師会微生物検査研究  
班宿泊研修会、箱根、2007 年 7 月 .

5) 加藤はる：Clostridium difficile 感染症 個々の症例の  
診断検査から世界の流行まで 横浜市立大学付属病院感  
染平成 19 年度第 1 回対策講演会、横浜、2007 年 7 月 .

6) 加藤はる：～たかが下痢、されど下痢、施設内感染  
も起こします～Clostridium difficile 関連下痢症ってどん  
な感染症？第 11 回がん診療セミナー(千葉県がんセンタ  
ー主催) 千葉、2007 年 11 月 .

7) 加藤はる：Clostridium difficile 感染症に関する細菌検  
査室の役割～細菌学的検査および施設内感染対策～ . 院  
内感染対策と微生物検査セミナー . 福岡、2007 年 12 月 .

8) 加藤はる：クロストリジウム・ディフィシル感染と  
施設内感染対策 第 8 回感染予防講演会(河北総合病院) .  
東京、2008 年 1 月 .

9) 加藤はる：Clostridium difficile 関連下痢症 / 腸炎  
検査から感染予防対策まで . 第 19 回岡山インフeksi  
ョンコントロール研究会、テーマ「最近話題の感染症—  
その実態と対策」、岡山、2008 年 3 月 .

10) Horiuchi Y.: Evaluation and Control of Vaccines -  
Problems and future prospect of vaccine evaluation.  
December 2007, Taipei, Taiwan.

11) Horiuchi Y.: A strategic approach for implementing the  
concept of 3Rs for safety control on pyrogen contamination in  
biologicals, Vaccination and vaccine valuation of DTaP.